木薯 *MeHSF10* 基因克隆及表达分析

曾坚[1]，张燕秋[1]，陈丽萍[1]，吴春来[2]，胡伟[2*]

(1. 韶关学院 英东生命科学学院， 广东 韶关， 512005； 中国热带农业科学院热带生物技术研究所，海口，571101)

摘 要： 热激转录因子(heat shock transcription factor, HSF) 是植物中重要的逆境调控因子。许多研究表明HSF通过对信号通路下游的逆境相关基因进行调控来提高植物适应逆境的能力，如提高植株在干旱和氧化损伤等逆境中的耐受能力。为研究 *HSF* 在木薯抗逆和采后储存中的功能，本研究以木薯品种 SC124 为材料，通过 RT-PCR 技术从木薯叶片克隆得到一个木薯 *HSF* 家族基因，将其命名为 *MeHSF10*。结果表明：（1）该基因全长为 1 098 bp，编码 365 个氨基酸残基，蛋白质相对分子量为 40.7 kD，理论等电点为 8.15，蛋白的亚细胞定位预测为细胞核。蛋白质序列分析结果表明 MeHSF10 与麻风树 JcHSF 和橡胶树 HbHSF 的相似性最高，分别为 80.31 %和 90.54 %。MeHSF10 基因的蛋白序列含有 HSF 蛋白家族的保守结构域，如 DBD、HR-A Core、HR-B Core、插入序列和核定位信号 (nuclear localization signal, NLS)，表明 MeHSF10 基因编码的蛋白质属于 HSFC 家族成员。（2）为分析 *MeHSF10* 基因在木薯不同组织中的表达情况，对该基因在木薯 11 个组织中的表达进行分析，结果表明 *MeHSF10* 基因在木薯所有组织中都有表达，在叶片中的表达最高。（3）对 *MeHSF10* 基因的启动子序列进行元件分析，结果显示其含有 ABA 响应（ABA responsive motif）、干旱诱导 (drought-induced motif) 和光响应 (light-responsive motifs) 等元件。（4）表达分析结果也表明 *MeHSF10* 基因能被干旱和 ABA 处理显著诱导，*MeHSF10* 基因在木薯块茎的采后生理性变质过程中也被显著诱导表达。综上结果表明，*MeHSF10* 基因可能在转录水平参与 ABA 介导的木薯干旱胁迫响应和木薯块茎的采后生理性变质，这为进一步研究其在木薯抗逆和采后储存中的功能奠定基础。

关键词： 热激转录因子, *MeHSF10*, 非生物胁迫, 采后生理性变质, 表达分析

Clone and expression analysis of *MeHSF10* in *Manihot esculenta*

ZENG Jian[1], ZHANG Yanqiu[1], CHEN Liping[1], WU Chunlai[2], HU Wei[2*]

(1. *Henry Fok College of Life Sciences, Shaoguan University*, Shaoguan 512005, Guangdong, China; 2. *Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences*, Haikou 571101, China)

Abstract: Heat shock transcription factor (HSF) is a key adverse regulatory factor in plants. Many studies have shown that HSFs can partake in signal transduction pathways and regulate genes expression responsive for a variety of abiotic/biotic stresses, such as improving the tolerance to high salinity and oxidative stress in plants. In order to analyze the function of *HSF* in cassava, *Manihot esculenta* cv. SC124 was used as cloning material. In this study, a *HSF* gene designated *MeHSF10* was isolated from *M. esculenta* Crantz leaves through RT-PCR method. The results were as follows: (1) The full-length cDNA of *MeHSF10* was 1 098 bp, encoded a polypeptide

---

基金项目：韶关学院重点项目(SZ2018KJ05)；韶关市科技计划项目(2019sn087)；国家自然科学基金(31901537)；韶关学院博士启动项目；广东省教育厅青年创新人才项目(2018KQNCX234)[Supported by the Key Program of Shaoguan University (SZ2018KJ05); Science and Technology Planning Program of Shaoguan City (2019sn087); theNational Natural Science Foundation of China (31901537); Doctoral Scientific Research Startup Foundation of Shaoguan University (99000615); Foundation for Young Innovation Talents of Education Office of Guangdong Province (2018KQNCX234)]。

作者简介：曾坚(1987-)，男，湖南岳阳人，博士，讲师，研究方向为植物分子生物学研究，(E-mail)zengjian@sgu.edu.cn。

*通信作者：胡伟，博士，研究员，研究方向为植物分子生物学，(E-mail)huwei2010916@126.com。

of 365 amino acid residues with a predicted relative molecular mass of 40.7 kD and an isoelectric point of 8.15. Subcellular localization of MeHSF10 is predicted as nuclear localization. Multiple protein sequence alignment showed that MeHSF10 shared a significant degree of sequence similarity with other HSF proteins in *Jatropha curcas* (80.31 %) and *Hevea brasiliensis* (90.54 %). The protein sequece of MeHSF10 contained conserved motifs of the HSF family, such as DNA Binding Domain (DBD), HR-A Core, HR-B Core, Insert sequence, and Nuclear localization sequence signal (NLS), these results suggested that MeHSF10 isolated from cassava was a genuine member of the HSFC family. (2) In order to analyze the expression profiles of *MeHSF10* gene in cassava, the expression data of 11 cassava tissue/organ types were analyzed, and the result showed that *MeHSF10* gene expressed in all 11-cassava tissues, and the highest expression of *MeHSF10* was in leaf. (3) Results of promoter element analysis revealed that *MeHSF10* contained drought-induced motif (MBS), ABA responsive motif (ABRE), and several light-responsive motifs. (4) The transcriptome data results also indicated that *MeHSF10* was upregulated by drought stress and ABA treatment. The expression of *MeHSF10* was also induced in cassava PPD process. Expression analysis revealed that *MeHSF10* might be involved in ABA mediated drought stress response. *MeHSF10* was also related with PPD and might operate mainly through ROS-regulated gene networks. Therefore, these results offered critical basic knowledge for future gene function analysis of *MeHSF10* in cassava.

Keywords: heat shock transcription factor (HSF), *MeHSF10*, abiotic stress, PPD, expression analysis

植物在漫长的进化过程中已经进化出了应对各种逆境的抵御机制 (Ohama et al., 2017)。研究结果表明，热休克反应在植物响应非生物胁迫过程扮演着重要角色，热激转录因子(heat shock transcription factor, HSF)是其中重要的调控因子，HSF 通过对信号通路下游的逆境相关基因进行调控来提高植物适应逆境的能力。HSF 能够提高植株在热、干旱和氧化损伤等逆境中的耐受能力，在植物应对非生物胁迫过程中起着非常重要的作用 (Guo et al., 2016; Zhou et al., 2018, Jiang et al., 2018)。HSF 还能够提高植物适应不同非生物胁迫的能力，如 TaHSFA4a 可提高水稻在重金属环境中的生存能力 (Shim et al., 2009)；SlHsfA1 可提高番茄在高温环境的生存能力 (Scharf et al., 2012)；CarHsfB2 可提高拟南芥在干旱环境中的生存能力(Hao et al., 2016)；AtHSFA6a 和 AtHSFA6b 也可提高拟南芥在高盐和低温环境中的生存能力；AtHSFA2 可提高拟南芥在高渗、高盐和高氧化水平环境中的生存能力(Miller & Mittler, 2006; Banti et al., 2010)。因此，不同物种的 *HSF* 基因均能提高不同植株应对不同逆境胁迫的能力。

木薯(*Manihot esculenta* Crantz)是广泛种植于热带及亚热带地区的重要粮食作物。在我国，木薯种植面积 5.0×10^5 hm^2，年产量约 1.0×10^{10} kg，年产值超过 140 亿元，是我国热带和亚热带地区一种重要的经济作物 （张鹏等，2014）。木薯是我国和世界上具有巨大发展潜力的能源植物，可用于生产工业淀粉，燃料乙醇，生物基材料(张鹏等，2014；Hu et al., 2016；颜彦等，2018)。木薯本身拥有较好的抗旱和耐贫瘠等特点，随着绿色能源需求的不断增加，木薯作为生物质能源的潜力越来越被受到重视。此外，木薯块根采后易出现“采后生理性变质”(post-harvest physiological deterioration, PPD)，导致其储藏期时间短，严重影响了其在工业生产的开发利用 (Zidenga et al., 2012；张振文和李开绵，2012；Xu et al., 2013)。目前，关于 *HSF* 基因在木薯中的功能研究还鲜有报道 (Wei et al., 2018, Yu et al., 2019)。因此，克隆木薯 *HSF* 相关基因并进行表达分析，对深入研究其在木薯抗逆过程和 PPD 过程中的表达调控作用具有重要意义。本研究利用前期木薯转录组数据，通过 PCR 技术克隆到了一个热激转录因子 *MeHSF10* 基因，并对其编码蛋白序列、保守结构域和进化关系进行了初步分析，对 *MeHSF10* 在干旱胁迫、ABA 处理和 PPD 过程中的表达模式进行了分析，为研究 *MeHSF10* 基因功能及抗逆分子机理提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究选用的木薯材料为 SC124 品种（*Manihot esculenta* cv. SC124），由中国热带农业科学院热带生物技术研究所保存。植物 RNA 提取试剂盒(货号: DP437)购自天根生化科技有限公司，cDNA 反转录试剂盒(货号: K1622) 购自 Fermentas 公司。PCR 引物由上海生工生物工程股份有限公司合成。

1.2 材料处理

将木薯茎秆切成合适长度的小节(包含 3~4 个芽点)，将其种入蛭石和营养土比例为 1:1（V/V）的基质中生长。待生长约 60 d 后，选取生长状况一致的木薯幼苗作为后续实验材料。采用 20 %（W/V）PEG-6000 进行干旱模拟处理，对照植株浇灌水，在处理 0、3、5、7 d 后采集木薯叶片样品用液氮速冻后放入超低温冰箱保存；使用 100 μM ABA 进行浇灌，在处理 0、3、5、7 d 后采集木薯叶片样品用液氮速冻后放入超低温冰箱保存；取生育期 10 个月的木薯块根，置于 25 ℃、70 % 相对湿度的培养箱内进行暗培养，分别在 0、6、12、48 h 取样，采集的木薯样品用液氮速冻后放入超低温冰箱保存，每个样品设 3 次生物学重复。

1.3 基因克隆

分别使用 RNA 提取试剂盒和反转录试剂盒进行 RNA 提取和反转录。根据木薯同源序列 (Manes.02G087400.1) 设计引物 (P1: 5'-ATGAGCAAAAAAGAAAAAAAAG-3'; P2: 5'-CTAAAAGCCACCACCTAAAAGCG-3')，以木薯叶片 cDNA 为模板进行 *MeHSF10* 基因扩增。扩增产物连接至 pMD-18T 载体，转化大肠杆菌并挑选阳性单克隆进行测序。

1.4 生物信息学分析

使用 NCBI 中的 BLASTp 搜索其它物种中和 MeHSF10 同源的蛋白质序列；使用 Plant-mPLoc 软件预测亚细胞定位；使用 NCBI-CDD 数据库预测保守结构域；通过 ExPASy ProtParam 计算蛋白质的理论等电

点和相对分子质量；用 DNAMAN6 软件进行序列比对；利用 MEGAX 中的 Neighbor-Joining (NJ)法构建进化树；用 Primer 5.0 软件设计引物；Plantcare 进行启动子元件分析(http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/)。

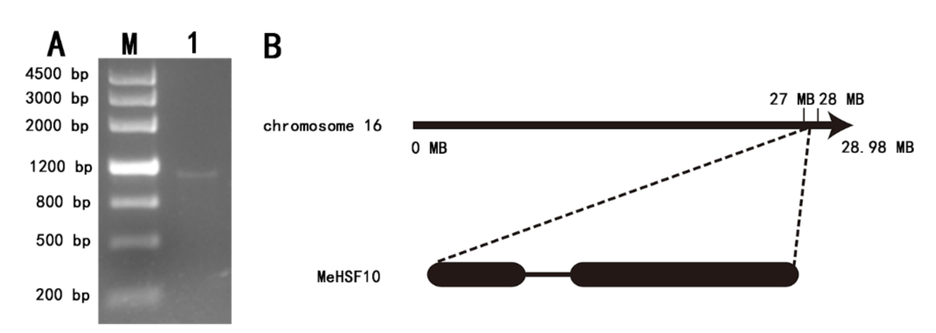
1.5 基因的表达分析

将相应处理的样品提取 RNA，建库并测序，这部分工作由上海美吉生物技术有限公司完成。测序平台是 Illumina GAII (Illumina, San Diego, CA, USA)。使用 FASTX-toolkit (http://hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit/) 移除接头序列和低质量序列。利用 Tophat 2.0 (Trapnell and Pachter LSalzberg, 2009) 软件将 clean reads 和木薯基因组参考序列 (version 4.1) 进行比对，将比对结果用 Cufflinks (Trapnell, et al., 2012) 来组装转录组数据，转录本至少存在于两个样本中才保留。ABA 处理、PEG 处理和 PPD 过程中的基因表达水平使用 FPKM (Fragments per kilobase per million mapped reads) 表示。

2 结果与分析

2.1 *MeHSF10* 基因的克隆

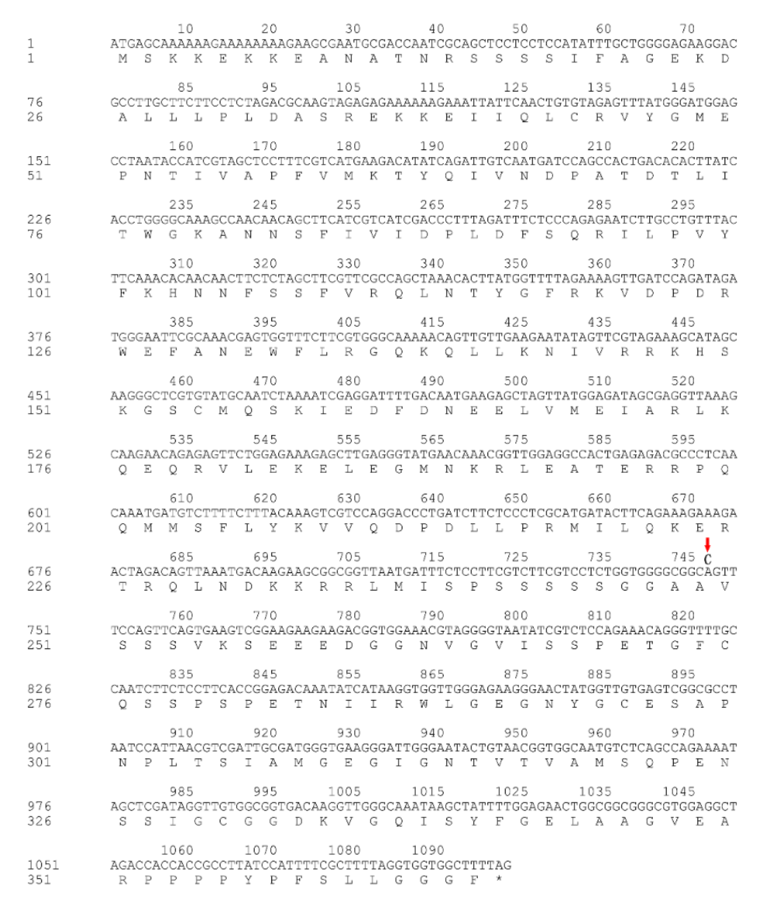
利用拟南芥 *AtHSF8* 基因 (登录号: AT3G24520) 的蛋白质序列为参考序列，在 Phytozome 数据库中进行 BLASTp 比对搜索，得到了一个和木薯相似性较高的基因序列(Manes.16G116200.1)。根据该基因设计引物后进行扩增，对目的基因进行测序后得到一个全长为 1 098 bp 的片段(图 1)，编码 365 个氨基酸，将其命名为 *MeHSF10* 基因。*MeHSF10* 基因和参考序列之间存在 1 个碱基差异，属于同义突变(图 2)。*MeHSF10* 基因序列含有 1 个内含子和 2 个外显子。MeHSF10 蛋白的分子式预测为 $C_{1790}H_{2849}N_{501}O_{551}S_{17}$，相对分子量 40.7 kD，理论等电点为 8.15，不稳定系数为 60.57，属于不稳定蛋白。蛋白的亚细胞定位预测为细胞核。蛋白保守结构域分析显示 MeHSF10 包含有 HSF 家族结构域(图 3)，进一步证明克隆得到的基因为木薯 *HSF* 基因。



M: Marker III.

图 1 木薯 *MeHSF10* 基因 PCR 产物的琼脂糖凝胶电泳结果(**A**)和 *MeHSF10* 基因在染色体位置(**B**)

Fig. 1 Agarose gel electrophoresis of *MeHSF10* gene of *Manihot esculenta* (**A**) and the location of *MeHSF10* in chromosome 16 (**B**)



箭头表示 *MeHSF10* 与参考序列之间存在 1 个碱基差异。

Arrow indicate there is one SNP between *MeHSF10* and the reference sequence.

图 2 *MeHSF10* 基因 ORF 序列

Fig. 2 ORF sequence of *MeHSF10*

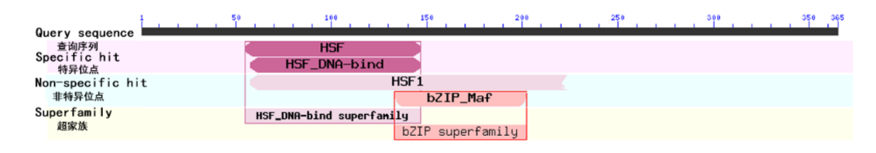
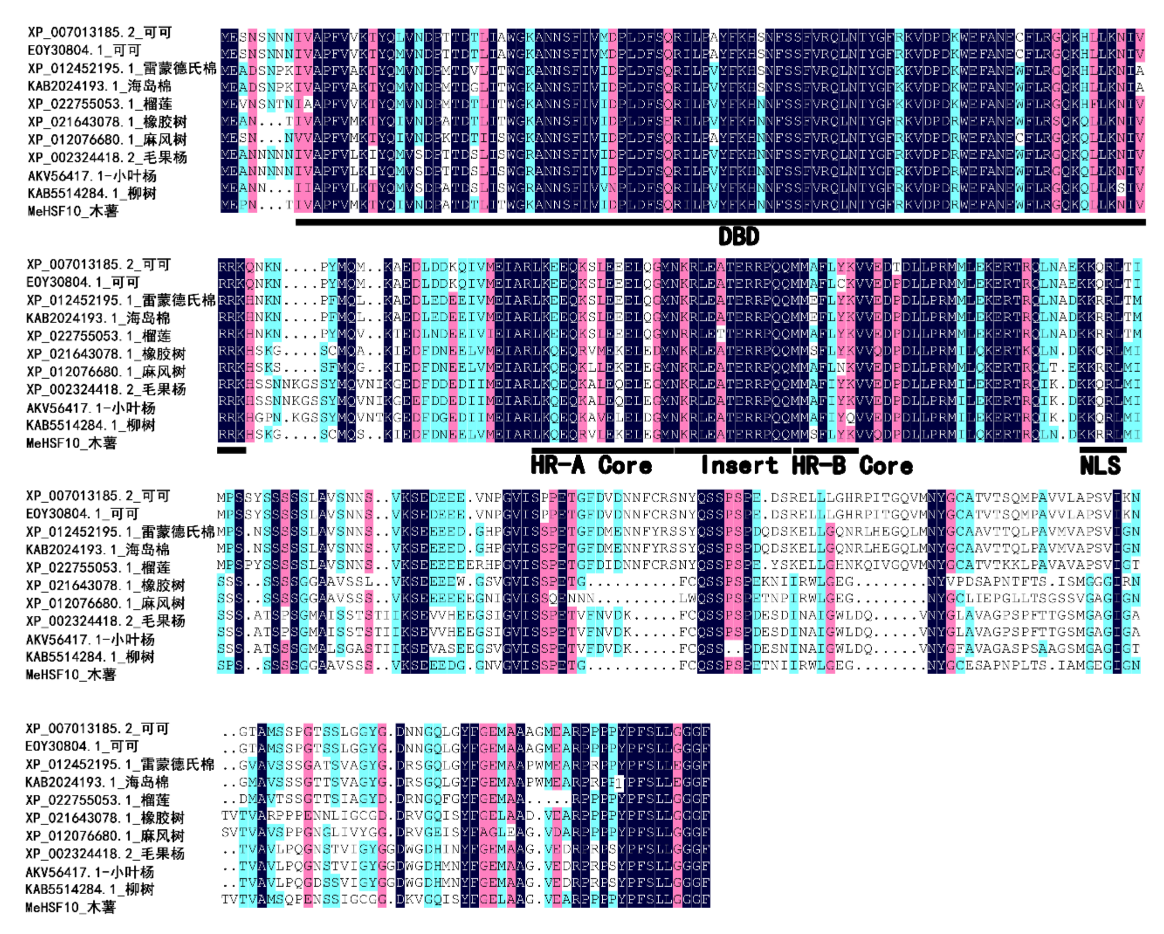


图 3 MeHSF10 蛋白质结构域分析

Fig. 3 Conserved domain analysis of MeHSF10 protein

2.2 MeHSF10 氨基酸序列同源性比对和系统发育分析

在 NCBI 数据库中使用 *MeHSF10* 基因的蛋白质序列为探针，进行 Blast 搜索，将同源性较高的序列下载，其中与橡胶树 (XP_021643078.1) 和麻风树 (XP_020535025.1) 的氨基酸序列相似性最高，分别达到为 90.54 %和 80.31 %。多重序列比对结果显示 *MeHSF10* 基因的蛋白序列含有 HSF 蛋白家族的保守结构域(图 4)。在 N 端约 6-100 氨基酸残基位置含有高度保守的 DNA Binding Domain （DBD），在 N 端约 170-210 氨基酸残基位置含有 HR-A Core、HR-B Core 和插入序列，在 N 端约 227-242 氨基酸残基位置含有核定位信号 (Nuclear localization signal, NLS)，这些结果表明 *MeHSF10* 基因编码的蛋白质属于 HSFC 家族成员。系统发育分析结果显示，木薯 MeHSF10 和橡胶树的 HbHSF 聚在一起，氨基酸序列一致性最高(图 5)。

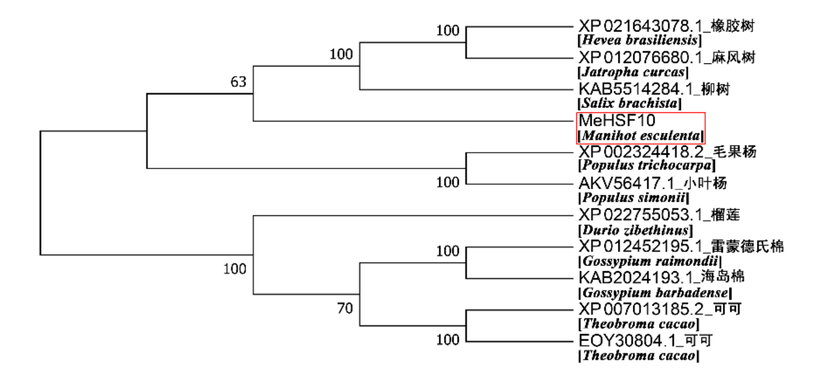


XP_021643078.1 橡胶树；XP_012076680.1 麻风树；XP_002324418.2 毛果杨；AKV56417.1 小叶杨；KAB5514284.1 柳树；XP_012452195.1 雷蒙德氏棉；KAB2024193.1 海岛棉；XP_007013185.2 可可；EOY30804.1 可可；XP_022755053.1 榴莲。

XP_021643078.1 [*Hevea brasiliensis*]; XP_012076680.1 [*Jatropha curcas*]; XP_002324418.2 [Populus trichocarpa]; AKV56417.1[*Populus simonii*]; KAB5514284.1 [*Salix brachista*]; XP_012452195.1 [*Gossypium raimondii*]; KAB2024193.1 [*Gossypium barbadense*]; XP_007013185.2 [*Theobroma cacao*]; EOY30804.1 [*Theobroma cacao*]; XP_022755053.1 [*Durio zibethinus*].

图 4 MeHSF10 与其它植物 HSF 蛋白的多序列比对分析

Fig. 4 Multiple sequence alignment of MeHSF10 and HSF proteins from other plants



红色方框标出 MeHSF10。

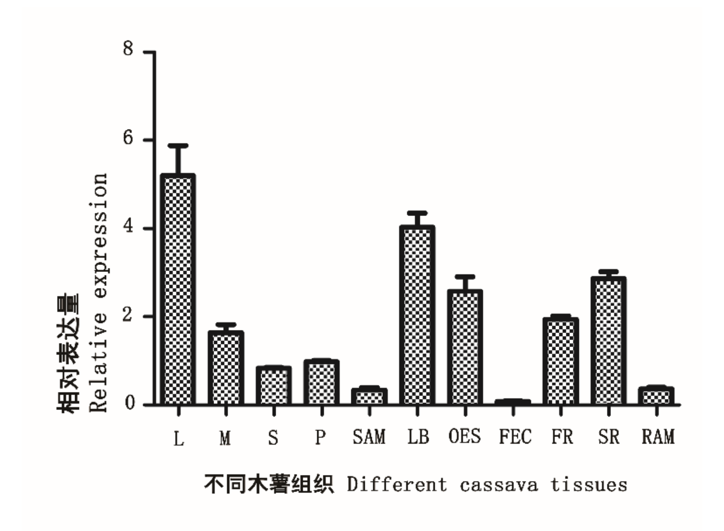
MeHSF10 was marked by red box.

图 5 木薯 MeHSF10 蛋白与其他物种 HSF 蛋白构建的系统进化树

Fig. 5 Phylogenetic tree of MeHSF10 in cassava and HSF genes from other species

2.3 *MeHSF10* 基因的组织表达分析

本研究通过下载得到木薯 11 个没有经过任何处理的组织的表达数据来研究 *MeHSF10* 基因在木薯不同组织中的表达变化情况 (shiny.danforthcenter.org/cassava_atlas/)。它们分别是叶(leaf)，中脉(midvein)，叶柄(petiole)，茎(stem)，侧芽(lateral bud)，顶端分生组织(shoot apical meristem, SAM)，根(storage root, SR)，须根(fibrous root, FR)，根顶端分生组织(root apical meristem, RAM)，分化胚组织(organized embryogenic structure, OES)，松散性胚性愈伤组织(friable embryogenic calli, FEC)。结果显示 *MeHSF10* 基因在不同组织中的表达水平不一样，在叶片中的表达水平最高，在分化程度较低的组织 FES、RAM 和 SAM 中的表达水平较低(图 6)。



表达量为 FPKM。L. 叶；M. 中脉; P. 叶柄; S. 茎; LB. 侧芽; SAM. 顶端分生组织; FR. 须根; SR. 根; RAM. 根顶端分生组织; OES. 分化胚组织; FEC. 松散性胚性愈伤组织。

The relative expression is FPKM. L. Leaf；M. Midvein；P. Petiole；S. Stem；LB. Lateral bud；SAM：Shoot apical meristem；FR. Fibrous root；SR. Storage root；RAM. Root apical meristem；OES. Organized embryogenic structure；FEC. Friable embryogenic calli.

图 6 *MeHSF10* 基因在木薯不同组织中的表达分析

Fig. 6 Expression analysis of *MeHSF10* in different tissues/organs of cassava

2.4 *MeHSF10* 基因在不同胁迫条件下的表达分析

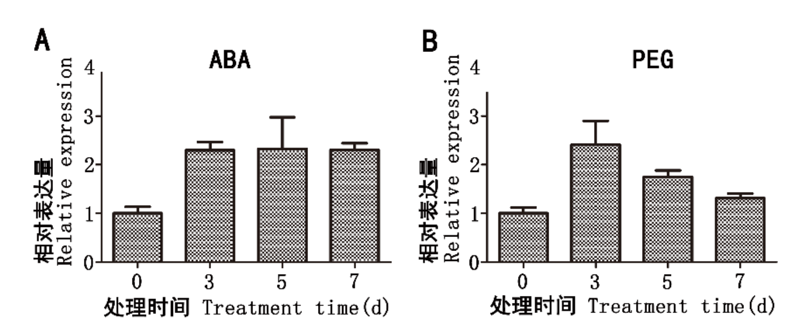
根据基因组数据，通过对 *MeHSF10* 基因起始密码子上游 1 500 bp 的序列进行启动子元件分析，结果表明启动子中包含 1 个干旱诱导元件 MBS、3 个 ABA 响应元件 ABRE (表 1)。因此，在 ABA 处理和模拟干旱胁迫下对 *MeHSF10* 基因的表达水平进行分析。结果表明 *MeHSF10* 基因在 ABA 处理下表达上调，在模拟干旱胁迫下也表达上调，分别最高提高了 2.3 倍和 2.4 倍(图 7)。

表 1 *MeHSF10* 基因启动子元件分析结果

Table 1 The promoter elements analysis of *MeHSF10*

序号 No.	元件名称 Element name	数目 Number	功能预测 Predicted function
1	ABA 响应元件 ABRE	3	ABA 响应 Abscisic acid responsive
2	光响应元件 Box 4	5	光响应 Light-responsive
3	光响应元件 G-Box	3	光响应 Light-responsive
4	干旱诱导元件 MBS	1	干旱诱导 Drought-inducible
5	茉莉酸甲酯反应元件 TGACG-element	1	茉莉酸诱导 MeJA-responsiveness

为研究 *MeHSF10* 基因与木薯块根采后生理性变质过程之间的关系，对 *MeHSF10* 基因在木薯采后生理性变质过程中的表达水平进行了分析。结果显示在采后生理性变质过程中 *MeHSF10* 基因的表达明显受到诱导，在 6 h 时没有显著变化，而 12 h 时达到最高水平，提高了约 4.3 倍，48 h 后表达水平下降但仍然高于 0 h (图 8)。



表达量为 FPKM。下同。

The relative expression is FPKM. The same below.

图 7 *MeHSF10* 基因在 ABA（**A**）和 PEG（**B**）处理下的表达分析

Fig. 7 Expression analysis of *MeHSF10* under ABA (**A**) and PEG (**B**) treatments

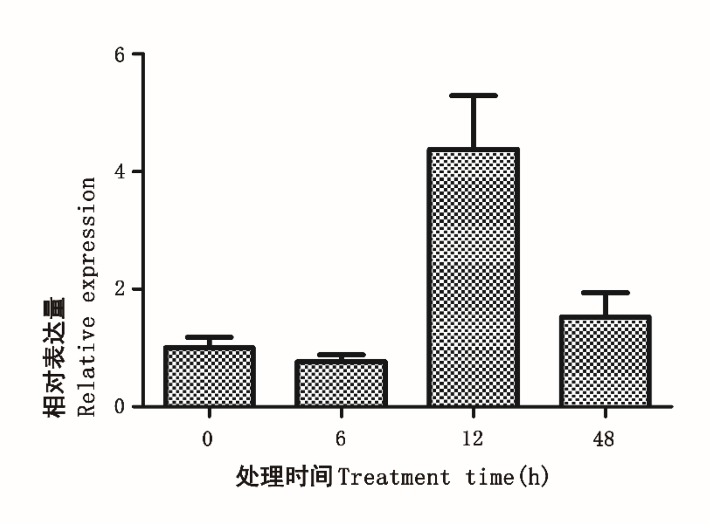


图 8 *MeHSF10* 基因在木薯块茎 PPD 过程中的表达分析

Fig. 8　Expression analysis of *MeHSF10* in PPD process of cassava tuberous roots

3 讨论

热激转录因子在自然界中有多个基因家族成员，它们含有不同的保守结构域，如 DNA 结合功能域(DBD)、寡聚化功能域(oligomerization domain, OD)、核定位信号(NLS)等。根据保守结构域 OD 的特点可以分为 HSFA、HSFB 和 HSFC 三个家族 (Guo et al.，2016)。HSF 家族在不同植物中拥有不一样的数量，例如拟南芥中有 21 个，水稻 25 个，玉米中 25 个，小麦中则超过 56 个，都含有 HSF 基因家族的保守结构域，并对它们的功能进行了深入研究（Guo et al., 2008; Mittal et al., 2009； Lin et al., 2011; Scharf et al., 2012; Xue et al., 2014），但在木薯中的报道还很少。本研究分离的 *MeHSF10* 基因序列全长为 1 098 bp，编码 365 个氨基酸。序列分析表明该基因含有 HSFC 家族的保守结构域 (李菲等, 2017)，系统发育分析结果显示 MeHSF10 与橡胶树 HbHSF 和麻风树 JcHSF 的亲缘关系较近。

HSF 基因在所有的水稻组织中都有表达，而 *HSF9* 则只在向日葵和拟南芥的种子中表达(Almoguera et al., 2002, Scharf et al., 2012)，番茄花粉组织中的 *HSFA2* 相比其它花组织表现出更高的表达 (Guo et. al., 2016)。因此，不同 *HSF* 基因会由于功能的差异在不同植物的不同组织中呈现出不同的表达水平。*MeHSF10* 基因的启动子序列分析结果显示其含有大量的光诱导元件(表 1)，而 *MeHSF10* 在叶片中的表达水平最高，推测该基因可能与叶片中的光合作用相关。

启动子是基因表达调控的重要元件，*MeHSF10* 基因的启动子序列分析结果显示其含有干旱诱导相关元件 MBS 和 ABRE 元件。因此，本研究分别对木薯进行干旱和 ABA 处理，结果表明 *MeHSF10* 基因的表达明显受到干旱胁迫和 ABA 处理的诱导。在拟南芥中，*AtHsfA9* 通过 ABA 信号通路来提高植株应对干旱胁迫的能力 (Guo et al., 2008)，过表达 *AtHSFA2* 和 *AtHSFA8* 基因可提高拟南芥植株对盐和渗透胁迫的适应能力；过表达 *OsHSF29* 和 *OsHSF17* 基因可以提高水稻植株对盐和渗透胁迫的适应能力 (Jin et al., 2013)。因此，推测 *MeHSF10* 可能通过依赖于 ABA 信号通路的途径来响应干旱胁迫，但具体是哪些基因参与了 *MeHSF10* 介导的分子调控仍不清楚。*MeHSF10* 在木薯生理性变质过程中的高表达则表明该基因可能和木薯块茎的生理性变质相关。研究报告指出 *HSF* 和植物应对氧化胁迫密切相关，在水稻中 *OsHsfC2a* 和 *OsHsfA5* 是植株 ROS 感知和含量积累的重要基因 (Miller et al., 2008；Mittal et al., 2009)。在烟草中过表达胡杨 *PeHSF* 基因则通过调节叶片中的 ROS 平衡来提高烟草应对非生物逆境胁迫的能力 (Shen et al., 2013)。因此，推测 *MeHSF10* 可能和氧化胁迫相关来影响木薯块茎的生理性变质。但 *MeHSF10* 基因如何参与木薯块茎的生理性变质仍不清楚。因此，对这些结果的进一步研究将有可能为木薯的抗逆和延缓生理性变质提供理论参考。下一步将通过对基因功能的研究来验证该基因在木薯抗旱和延缓生理性变质中的作用。

参考文献：

ALMOGUERA C, ROJAS A, DIAZ-MARTIN J, et al., 2002. A seed-specific heat-shock transcription factor involved in developmental regulation during embryogenesis in sunflower [J]. J Biol Chem, 277(46): 43866-43872.

BANTI V, MAFESSONI F, LORETI E, et al., 2010. The heat-inducible transcription factor hsfa2 enhances anoxia tolerance in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiol, 152(3): 1471-1483.

HU W, KONG H, GUO YL, et al., 2016. Comparative physiological and transcriptomic analyses reveal the actions of melatonin in the delay of postharvest physiological deterioration of cassava [J]. Front Plant Sci, 7: 736.

GUO JK, WU J, JI Q, et al., 2008. Genome-wide analysis of heat shock transcription factor families in rice and Arabidopsis [J]. J Genet Genomics, 35(2): 105-118.

GUO M, LIU JH, MA X, et al., 2016. The plant heat stress transcription factors (HSFs): Structure, regulation, and function in response to abiotic stresses [J]. Front Plant Sci, 7: 114.

HAO M, WANG C, YANG B, et al., 2016. *CarHSFB2*, a class B heat shock transcription factor, is involved in different developmental processes and various stress responses in Chickpea **(***Cicer Arietinum* L.) [J]. Plant Mol Biol Rep, 34(1): 1-14.

JIANG Y, ZHENG QQ, CHEN L, et al., 2017. Ectopic overexpression of maize heat shock transcription factor gene ZmHsf04 confers increased thermo and salt-stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. Acta Physiol Plant, 40(1): 1-12.

JIN GH, GHO HJ, JUNG KH, 2013. A systematic view of rice heat shock transcription factor family using phylogenomic analysis [J]. J Plant Physiol, 170(3): 321-329.

MILLER G, SHULAEV V, MITTLER R, 2008. Reactive oxygen signaling and abiotic stress [J]. Physiol Plant, 133(3): 481-489.

MILLER G, MITTLER R, 2006. Could heat shock transcription factors function as hydrogen peroxide sensors in plants? [J]. Ann Bot-London, 98(2): 279-288.

MITTAL D, CHAKRABARTI S, SARKAR A, et al., 2009. Heat shock factor gene family in rice: genomic organization and transcript expression profiling in response to high temperature, low temperature and oxidative stresses [J]. Plant Physiol Biochem, 47(9): 785-795.

LI F, HE XH, ZHANG XM, et al., 2017. Screening and functional analysis of Heat Shock Factor (HSF) family in *Medicago truncatula* and *Medicago lupulina* L. [J]. Mol Plant Breed, 15(7), 2517-2524. [李菲，何小红，张习敏，等, 2017. 蒺藜苜蓿和天蓝苜蓿热激因子(HSF)家族的筛选与功能分析[J]. 分子植物育种, 15(7):48-55.]

LIN YX., JIANG HY, CHU ZX, et al., 2011. Genome-wide identification, classification and analysis of heat shock transcription factor family in maize [J]. BMC Genomics, 12

OHAMA N, SATO H, SHINOZAKI K, et al., 2017. Transcriptional regulatory network of plant heat stress response [J]. Trends Plant Sci, 22(1): 53-65.

SCHARF KD, BERBERICH T, EBERSBERGER I, et al., 2012. The plant heat stress transcription factor (Hsf) family: Structure, function and evolution [J]. BBA-Gene Regul Mech, 1819(2): 104-119.

SHEN Z, DING M, JIAN S, et al., 2013. Overexpression of *PeHSF* mediates leaf ROS homeostasis in transgenic tobacco lines grown under salt stress conditions [J]. Plant Cell Tiss Org, 115(3): 299-308.

SHIM D, HWANG JU, LEE J, et al., 2009. Orthologs of the class a4 heat shock transcription factor HsfA4a confer cadmium tolerance in wheat and rice [J]. Plant Cell, 21(12): 4031-4043.

TRAPNELL C, PACHTER LSALZBERG SL, 2009. TopHat: discovering splice junctions with RNA-Seq [J]. Bioinformatics, 25: 1105-1111.

TRAPNELL C, ROBERTS A, GOFF L, et al., 2012. Differential gene and transcript expression analysis of RNA-seq experiments with TopHat and Cufflinks [J]. Nat Protoc, 7: 562-578.

WEI YX, LIU GY, CHANG YL, et al., 2018. Heat shock transcription factor 3 regulates plant immune response through modulation of salicylic acid accumulation and signalling in cassava [J]. Mol Plant Pathol, 19(10): 2209-2220.

XU J, DUAN XG, YANG J, et al., 2013. Enhanced reactive oxygen species scavenging by overproduction of superoxide dismutase and catalase delays postharvest physiological deterioration of cassava storage roots [J]. Plant Physiol, 161(3): 1517-1528.

XUE GP, SADAT S, DRENTH J, et al., 2014. The heat shock factor family from *Triticum aestivum* in response to heat and other major abiotic stresses and their role in regulation of heat shock protein genes [J]. J Exp Bot, 65(2): 539-557.

YAN Y, TIE WW, DING ZH, et al., 2018. Cloning and expression analysis of *MePYL8* gene in cassava [J]. Mol Plant Breed, 16(14), 4498-4504. [颜彦, 铁韦韦, 丁泽红, 等, 2018. 木薯 *MePYL8* 基因克隆及表达分析[J]. 分子植物育种, 16(14):36-42.]

YU XY, YAO Y, HONGYH, et al., 2019. Differential expression of the Hsf family in cassava under biotic and abiotic stresses [J]. Genome, 62(8): 563-569.

ZHANG P, YANG J, ZHOU WZ, et al., 2014, Progress and perspective of cassava molecular breeding for bioenergy development [J]. Chin Bull Life Sci，26(5): 465-473. [张鹏, 杨俊, 周文智, 等, 2014. 能源木薯高淀粉抗逆分子育种研究进展与展望[J]. 生命科学, 26(5):465-473.]

ZHANG ZW, LI KM, 2012. Review on postharvest deterioration and methods of storage for cassava tuberous root [J]. Chin J Trop Crops, 33(7): 1326-1331. [张振文, 李开绵, 2012. 木薯块根采后腐烂及贮藏方法研究进展[J]. 热带作物学报, 33(7):1326-1331.]

ZHOU J, XU X, CAO JJ, et al., 2018. HsfA1a is essential for Mi-1.2-mediated resistance to Meloidogyne incognita, and regulates Wfi1 transcription and H_2O_2 production [J]. Plant Physiol, 176(3): 2456-2471.

ZIDENGA T, E. LEYVA-GUERRERO H, MOON D, et al., 2012. Extending cassava root shelf life via reduction of reactive oxygen species production [J]. Plant Physiol, 159(4): 1396-1407.